

# LCMS-8040 分析中药九味羌活丸中的马兜铃酸 I

LCMSMS-508

**摘要：**本文参考 2020 版《中国药典》九味羌活丸相关检查标准，建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定九味羌活丸中马兜铃酸 I 含量的方法。实验结果表明：在本系统条件下，空白溶剂对马兜铃酸 I 检测无干扰；马兜铃酸 I 在 1~100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数为 0.9998；对 20 ng/mL 的对照品溶液重复进样 6 针，保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.055% 和 2.90%，仪器精密度良好；6 次加标回收实验中，马兜铃酸 I 的平均回收率为 96.23%，RSD 为 2.18%，方法准确度良好。该方法为采用 LC-MS/MS 方法检测马兜铃酸 I 的检测人员提供很好的参考。

**关键词：**九味羌活丸 LCMS-8040 马兜铃酸

马兜铃酸主要存在于马兜铃科马兜铃属 *Aristolochia* 和细辛属 *Asarum* 植物中，具有抗感染、抗癌、镇痛等药理作用，临床上被用于多系统多种疾病的治疗。同时，马兜铃酸也是一种具有致癌性和肾毒性的硝基菲类有机酸，其中以马兜铃酸 I 的毒性最强。《中国药典》自 2005 版起，已不再收录关木通、广防己、青木香等含马兜铃的中药方，细辛药用部位也将“全草”修改为“根和根茎”，原因是细辛地上部分马兜铃的含量较高。《中国药典》2010 年版进一步规定，

采用 HPLC 法检测细辛中的马兜铃酸 I 含量不得超过 0.001%。《中国药典》2020 版首次规定采用 LC-MS/MS 法检测九味羌活丸中的马兜铃酸 I，该处方中含有细辛药材，并规定 1 g 九味羌活丸中马兜铃酸 I 的含量不得过 500 ng。

本文参考《中国药典》2020 版《九味羌活丸》标准，利用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用，建立九味羌活丸中马兜铃酸 I 的检测方法，供相关检测人员参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用高效液相色谱仪 LC-20A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统，具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A

输液泵：LC-20AD XR×2

自动进样器：SIL-20AC XR

柱温箱：CTO-20AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.91

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox (50 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μm) ，  
PN: 227-32007-02，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A 相 -0.1% FA 水溶液，B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：30°C

进样量：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 35%，洗脱程序见表 1。

表 1 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
10	Pumps	Pump B Conc.	38
10.1	Pumps	Pump B Conc.	35
13	Controller	Stop	

## 质谱条件

 离子化模式: ESI<sup>+</sup>

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

接口电压: 3 kV

驻留时间: 200 ms

碰撞气: 氦气

DL 温度: 150°C

加热模块温度: 400°C

离子源位置: +2 mm

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	马兜铃酸 I	313-67-7	359.10	296.10*	-13.00	-13.00	-29.00
				298.00	-10.00	-12.00	-30.00

\* 表示定量离子

## 1.3 样品前处理

(1) 供试品溶液: 取市售九味羌活丸适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 分钟, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

(2) 标准工作液: 取马兜铃酸 I 对照品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇溶解并制成每 1 mL 含 25 μg 的溶液, 作为标准储备液。精密量取标准储备液适量, 加 70% 甲醇稀释制成每 1 mL 各含 1、2、5、10、20、50、100 ng 的溶液作为标准工作液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准样品定量定性通道 MRM 色谱图

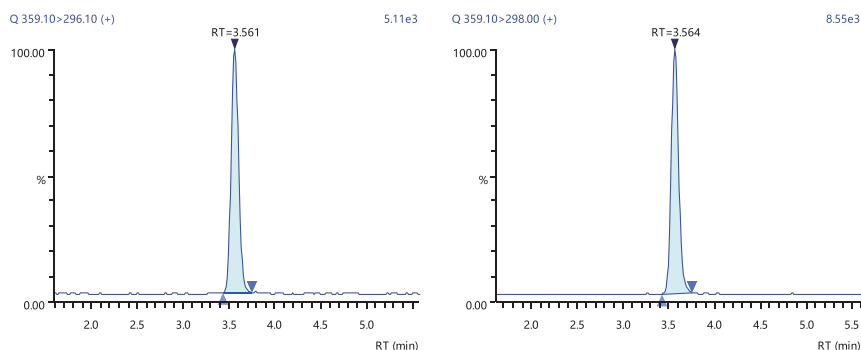


图 1 20 ng/mL 标准样品 MRM 色谱图 (左图为定量离子)

### 2.2 专属性实验

对空白溶剂进行分析, 目标峰保留时间处, 无干扰, 如图 2 所示。

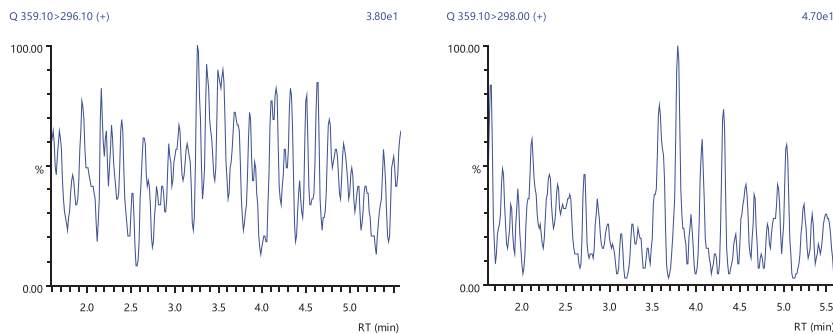


图 2 空白色谱图

### 2.3 线性范围

将浓度为 1、2、5、10、20、50、100 ng/mL 标准工作液，按 1.2 中的分析条件上机分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法建立校准曲线，结果如图 3 所示，线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

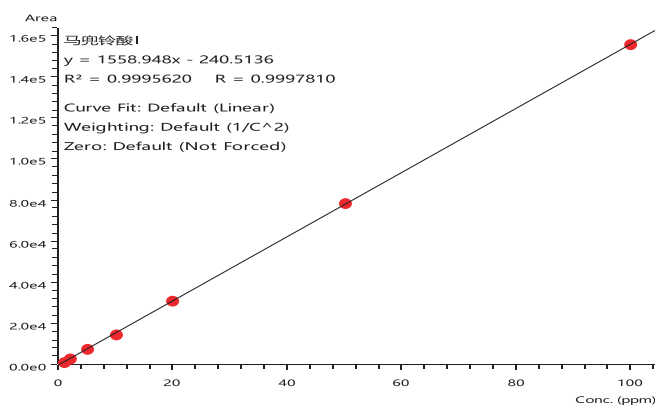


图 3 校准曲线

表 3 校准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 R	准确度 (%)
马兜铃酸 I	$Y = (1558.948)X + (-240.5136)$	1~100	0.9998	97.0~101.1

### 2.4 精密度实验

对浓度为 20 ng/mL 的标准溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，结果如表 4 所示，保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.055% 和 2.90%，仪器精密度良好。

表 4 精密度测试结果

项目	保留时间 (min)	峰面积
1	3.557	28171
2	3.560	29947
3	3.563	28851
4	3.561	30553
5	3.559	29454
6	3.561	28890
RSD(%)	0.055	2.90

## 2.5 样品测定

取供试品溶液按 1.2 中的分析条件上机分析，供试品中检出马兜铃酸 I，以外标法定量计算马兜铃酸 I 的浓度为 5.294 ng/mL，含量为 132.35  $\mu\text{g/g}$ 。根据《中国药典》2020 版对九味羌活丸中马兜铃酸 I 的含量要求，供试品溶液中  $m/z$  359.0  $\rightarrow$  298.0 和  $m/z$  359.0  $\rightarrow$  296.0 两个通道的色谱峰应小于 20 ng/mL 对照品色谱峰。本品结果符合药典规定，色谱图如图 4 所示。

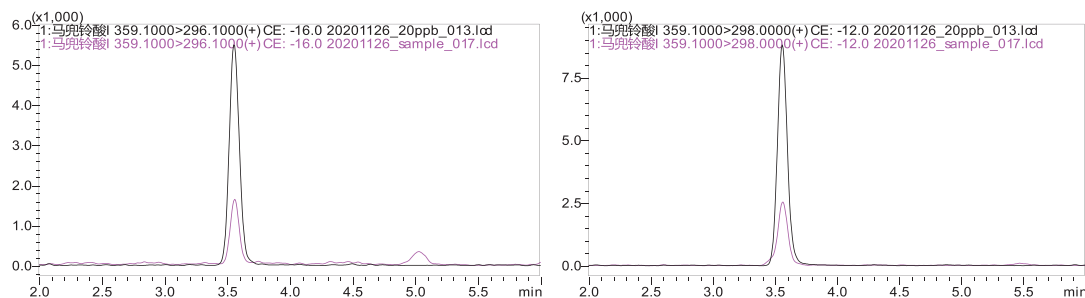


图 4 供试品及限度对照品色谱图 (红色: 供试品, 黑色: 对照品 20 ng/mL)

## 2.6 加标回收率实验

取本品细粉 6 份，精密称定，分别精密加入马兜铃酸 I 对照品溶液适量，按 1.3 方法进行前处理，考察回收率，回收率如表 6 所示。

表 6 加标回收率考察

序号	样品中含量 (ng)	加标量 (ng)	实测值 (ng)	回收率 (%)	平均回收率 $\pm$ RSD (%)
1	130.44	250.00	366.65	96.38	96.23 $\pm$ 2.18
2	133.71	250.00	371.33	96.77	
3	132.15	250.00	374.35	97.96	
4	130.68	250.00	375.60	98.67	
5	144.55	250.00	372.98	94.53	
6	142.41	250.00	365.25	93.08	

## ■ 结论

本文参考 2020 版《中国药典》九味羌活丸相关检查标准，建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定九味羌活丸中马兜铃酸 I 含量的方法。该方法具有专属性强、灵敏度高、重复性好的特点，满足 2020 版《中国药典》九味羌活丸马兜铃酸 I 的检查需求。

岛津应用云

